# 矮紫金牛的开花生物学与繁育系统研究

叶家桐[1,2]， 毛世忠[2]， 胡兴华[2*]， 朱晓珍[2]， 段云博[2]， 邓涛[2]， 黄仕训[2]

（1. 桂林理工大学 旅游与风景园林学院，广西 桂林 541006；2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所，广西 桂林 541006)

**摘要：**矮紫金牛(*Ardisia humilis*)是优良的野生观赏植物，该文探究该植物开花生物学与繁育系统特征，以促进其杂交选育与园林应用。以同质园引种的矮紫金牛为研究对象，对其开花物候、访花昆虫种类及其访花行为进行观测，采用花粉离体萌发法和联苯胺－过氧化氢法，对花粉活力与柱头可授性进行检测，结合配子显微观测法和控制性授粉试验，对繁育系统进行分析。结果表明：(1)矮紫金牛花期为 5 月中旬至 6 月中旬，盛花期在 5 月底，单花、单株和群体水平的花期分别为 1、17~20 和 25 d。(2)矮紫金牛开两性花，雌蕊先熟，与雄蕊成熟期部分重叠，柱头可授性滞至雄蕊凋落后 1 d。(3)杂交指数(OCI 值)为 4，P/O 比为 $5.61 \times 10^3$，显示其繁育系统以异交为主，部分自交亲和，需要传粉者。(4)自然授粉的结实率最高(平均 52.96%)，其次是自花授粉(52.29%)和人工异株授粉(50.33%)，三者差异不显著($P > 0.05$)，但均显著高于人工同株授粉的结实率(28.67%)($P < 0.05$)，显示矮紫金牛不仅异交亲和性强，还具有很强的自动自花授粉能力。(5)主要传粉昆虫包括隧蜂科的淡脉隧蜂属 *Lasioglossum* sp.1、*Lasioglossum* sp.2 和隧蜂属 *Halictus* sp.，具有泛化传粉昆虫资源特征。本研究为矮紫金牛的资源利用与种质创新提供了重要的生物学理论参考。

**关键词：**矮紫金牛，开花生物学，繁育系统，访花昆虫，传粉生物学

**中图分类号：** **文献标识码：**A 文章编号：

# Flowering biological characteristics and breeding system of *Ardisia humilis*

YE Jiatong[1,2], Mao Shizhong[2], HU Xinghua[2*], ZHU Xiaozhen[2], DUAN Yunbo[2], DENG Tao[2], and HUANG Shixun[2]

(1. *College of Tourism and Landscape Architecture, Guilin University of Technology*, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. *Guangxi Institute of Botany*, *Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences*, Guilin 541006, Guangxi, China)

**Abstract:** *Ardisia humilis* is an excellent wild ornamental plant. For the purpose of fully utilization of this elite germplasm, the flowering biology and breeding system of this plant had been expre in this study. We conducted field investigation in the flowering phenology, floral

---

**项目基金：**国家自然科学基金(32060255)；广西自然科学基金(2013GXNSFAA019 062)；广西科学院基本业务费项目(CQZ-E-1916)；广西植物研究所基本科研业务费项目(桂植业 202105)；广西林草种质资源普查与收集项目(桂林科字[2021]第 34 号)[Supported by National Natural Science Foundation of China (32060255); Guangxi Natural Science Foundation (2013GXNSFAA019062); Basic Research Fund of Guangxi Academy of Sciences (CQZ-E-1916); Fundamental Research Foundation of Guangxi Institute of Botany (202105), Survey and collection of germplasm resources of woody & herbaceous plants in Guangxi, China(GXFS[2021]34)]。

**第一作者：**叶家桐（1994-），硕士研究生，主要从事生态学与传粉生物学研究，（E-mail）cate_yejt@163.com。

***通信作者：**胡兴华，博士，副研究员，硕士研究生导师，研究方向为植物繁殖生态学与保护生物学，( E-mail) huxh773@ 163. com。

morphology, and floral visitor on *Ardisia humilis* individuals introduced in homogeneous garden. Furthermore, pollen viability and stigma receptivity were detected by pollen germination in vitro and by benzidine-hydrogen peroxide method, respectively. Combined with artificial pollination,the self-compatibility and the self-pollination of *Ardisia humilis* were also analyzed in this study. The results were as follows: (1) The florescence of *Ardisia humilis* was from mid-late May to early June. The flowering span of the population, single plant and single flower were approximately 25 d, 8 d and 1 d, respectively. (2) *Ardisia humilis* developed protogynic bisexual flowers, with partial overlap on mature stage of pistil and that of stamen, while stigma remained receptivity until 1 d after stamens fall. (3) With a OCI value of 4 and pollen / ovule value of $5.61\times10^3$, the breeding system of *Ardisia humilis* were considered to be outcrossing, with partial self-compatibility, and the pollinator insects were essential. *Lasioglossum* sp.1, *Lasioglossum* sp.2 and *Halictus* sp. were the most observed floral visitors on *Ardisia humilis*.(4) In artificial pollination, The seed set of natural pollination ranked the highest level (averaged 52.96%), followed by that of autogamy (52.29%) and of artificial cross pollination (50.33%), while that of artificial geitonogamy (28.67%) was the lowest one. This study indicated that, beside of being excellent flowering plant, *Ardisia humilis* is also a potentially important ornamental fruit plant due to the generalized pollination system and the strongly autogamy ability which enhance the high success of fruits development from blossoms.

**Key words:** *Ardisia humilis*, flowering biology, breeding system, flower-visiting insect, pollination biology



开花生物学反映了植物的开花物候、开花进程以及雌、雄配子发育特征(Fan et al., 2019; Wei et al., 2021)，而繁育系统则从花部开放式样、花部活力与寿命、传粉方式与交配习性等多个方面影响子代的遗传组成，均是植物长期适应环境和进化的产物( Danieli-Silva & Varassin, 2013; Chai et al., 2019; Barrionuevo et al., 2021)。此外，植物的繁育系统与开花生物学对子代的表征变异及其生殖成功与否起着决定性作用(Hegland et al., 2009；Cortés et al., 2017; Schoen et al., 2019)。比如，结实率的高低是衡量植物有性繁殖成功与否的一个重要标准（罗长维等，2019）；有效的传粉又是以大量有活性的花粉、处于可授期的柱头以及有效的传粉媒介为前提，揭示植物的传粉机制与其开花生物学特征相互适应的过程（Les, 1988; Traver et al., 2018）。因此，深入了解植物的花期物候和配子发育等开花生物学特征，以及准确判别植物的繁育系统，既是植物杂交选育的重要前提，也直接关系到授粉育种的成功率，在植物资源保育与利用中具有十分重要的作用(Li et al., 2018; 里绪杰等，2021)。

紫金牛属(*Ardisia* Sw.)植物主要分布于亚洲东部至东南部、热带美洲、澳大利亚和太平洋岛屿等地，全世界分布 400 多种，我国产 65 种(Flora of China, 2006)。该属植物多数物种具有良好的观赏价值，并逐步受到园艺界重视，国内外已对其中部分种类开展了资源调查与种质筛选等研究(Jeffrey et al., 2011; 毛世忠等，2012)。不过，该属植物的开花生物学以及繁育系统研究却尚未受到应有重视，仅有极少数种类得到关注(Pascarella, 1997; 陈小勇等，2001)。矮紫金牛(*Ardisia humilis*)为紫金牛属常绿灌木，为中国特有种，上世纪七十年代在雷州半岛南部和海南岛被发现(陈介，1979)。矮紫金牛植株高度 1-2 m，夏季开粉色花，且开花量较大，秋季结鲜红色果实，具有良好观花和观果的园林观赏价值，是选育优良观赏新品种的理想种质资源(王清隆等，2015)。由于该植物的开花生物学和繁育系统未曾被系统研究，导致其有性生殖的基本特征尚不清楚，不利于矮紫金牛种质资源的挖掘利用。因此，本研究以矮紫金牛为研究对象，通过探究其开花进程及繁育系统特性，为其栽培育种与种质创新提供理论依据，同时促进矮紫金牛属植物在园林景观中的推广应用。本研究拟探究以下科

学问题：（1）矮紫金牛开花物候的开花进程及花部特征是什么；（2）矮紫金牛在引种地的访花昆虫是什么以及访花效率如何；（3）矮紫金牛的繁育系统及繁殖保障策略是什么。

# 1 材料与方法

## 1.1 研究地点概况

研究地点位于桂林植物园，地处桂林市雁山区雁山镇（110° 17′ E，25° 01′ N），海拔 180 m，属亚热带季风气候，年平均气温 18.9 ℃，年平均相对湿度 73%—79%，年平均降水量 1 949.5 mm。实验观测的矮紫金牛为 40 株 7 年树龄的实生树，株高 1.0 m 左右，种源采自海南岛野生植株，2012 年采种沙藏，2013 年幼苗萌发后移栽，至 2019 年已连续开花 3 年。观测期为 2019 年 5 月至 10 月。

## 1.2 开花动态与花器官形态特征观察

观测记录矮紫金牛群体的开花动态，从现蕾期开始隔日观察，从第 1 株植株开花开始每日早上 10：00 定点进行观测，记录群体花朵始开与种群花期时间、以及每天当日每植株开花数量。按 Dafni(1992)方法，5%以上的个体开花时为群体始花期，50%及以上个体开花为群体盛花期，95%个体开花结束时为群体花末期。

为统计单株花期与单花开放进程，选取 6 株刚现花蕾的健壮矮紫金牛，挂牌标记，每日 9：00 观察花蕾直至开放后，每隔 1 h 观察 1 次，记录单花开放进程。单株上第 1 朵花开放日期为单株首花日，最后 1 朵花开放日期为单株终花日。参照张永胜等(2019)方法，观察并记录矮紫金牛花的柱头状态、花药的状态和散粉时间，并随机选择 10 朵完全开放的花，记录花瓣和雌雄蕊数目，用数显游标卡尺(精度为 0.01 cm)测量花瓣、花丝、柱头长度及柱头花药间距。

## 1.3 花粉/胚珠比(P/O)与杂交指数(OCI)估算

参考王茜等(2012)方法估算花粉/胚珠比(P/O)。对挂牌标记的植株，每株取花 3 朵，剪取即将散粉的花药，置于洁净离心管内，每朵花分别制成 2 mL 花粉粒悬浮液。用微量移液枪吸取 1 μL 于载玻片上，在生物显微镜(Olympus cx31)下统计花粉量，每个观察视野的花粉数不少于 40 粒，每朵花重复 3 次，观察花粉数乘以 $2\times10^3$，取均值计算单花花粉总量。在体式显微镜(Olympus szx7)下用解剖针划开心皮，观察统计胚珠数。以单花的花粉总量除以胚珠数，得到花粉/胚珠比(P/O 值)。按 Cruden(1976)的标准评判矮紫金牛的繁育系统类型；按照 Dafni（1992）的标准，通过杂交指数（OCI）评判繁育系统类型。

## 1.4 花粉活力与柱头可授性检测

分别在花朵的柱头伸出期、初开期、盛开期、衰落期、凋谢期采集花粉，以离体萌发法检测花粉活力。参照王洁(2012)方法，将 8.000 g 蔗糖、0.016 g 氯化钙、0.005 g 硝酸钾、0.005 g 硼酸和 0.011 g 硫酸镁加入 100 mL 蒸馏水制成培养液，取 2 滴置于洁净载玻片上，移取少量花粉放入培养液中，吹打混合后盖好盖玻片，将其放于湿润的培养皿中央，放入 25 ℃恒温箱培养 5 h 后，取 10 μL 混合液于生物显微镜(Olympus cx31)下观察花粉萌发情况。每个花期重复试验 5 朵花，每朵做 1 个装片，每个装片观察 3 个视野，以可见花粉粒大于 50 个的为 1 个有效视野。以花粉管长度大于花粉直径视为花粉萌发，花粉活力=(萌发花粉数/花粉总数)×100%。

参照 Dafni（1992）的方法，分别在花朵的柱头伸出期、初开期、盛开期、衰落期、凋谢期以及凋谢后 1 d、2 d、3 d 的早上 9-10 点，将柱头剪下放入联苯胺一过氧化氢反应液(1%联苯胺∶3%过氧化氢∶水 ＝4∶11∶22，体积比)，于体式显微镜(Olympus szx7)下观察，根据柱头周围气泡数量和柱头颜色来判断柱头可授性强弱。每个花期重复试验 5 朵花。

### 1.5 控制性授粉实验

在长势健壮的 3 株矮紫金牛上各随机选择 4 个花序，并分别作以下处理：(1)不授粉，不套袋，检测自然传粉条件下的结实率；(2)不授粉，不去雄，套袋，检测自动自花授粉能力；(3)去雄，人工异株授粉，套袋，检测异交结实率；(4)去雄，人工同株授粉，套袋，检测自交结实率。

### 1.6 访花昆虫观察

参考龚燕兵和黄双全(2007)方法，以直接观察法调查矮紫金牛访花昆虫的种类与频率。在盛花期，随机选取株距为 5-10 m 的 3 株矮紫金牛，每株标记花序 5 支，连续观察 3 d，从早上 7：00 至下午 19:00，每隔 1 h 统计标记花序上开放花朵的数量，并不间断观察和记录访花昆虫种类、数量、访花次数、单花访问时长及访花行为。拍摄昆虫访花照片，捕集访花昆虫制作凭证标本。

### 1.7 数据分析统计

以 Excel 2010 进行数据分析和图表绘制，采用 SPSS 13.0 进行单因素方差分析，并用 Duncan's ($\alpha$=0.05)检验差异显著性。

## 2 结果与分析

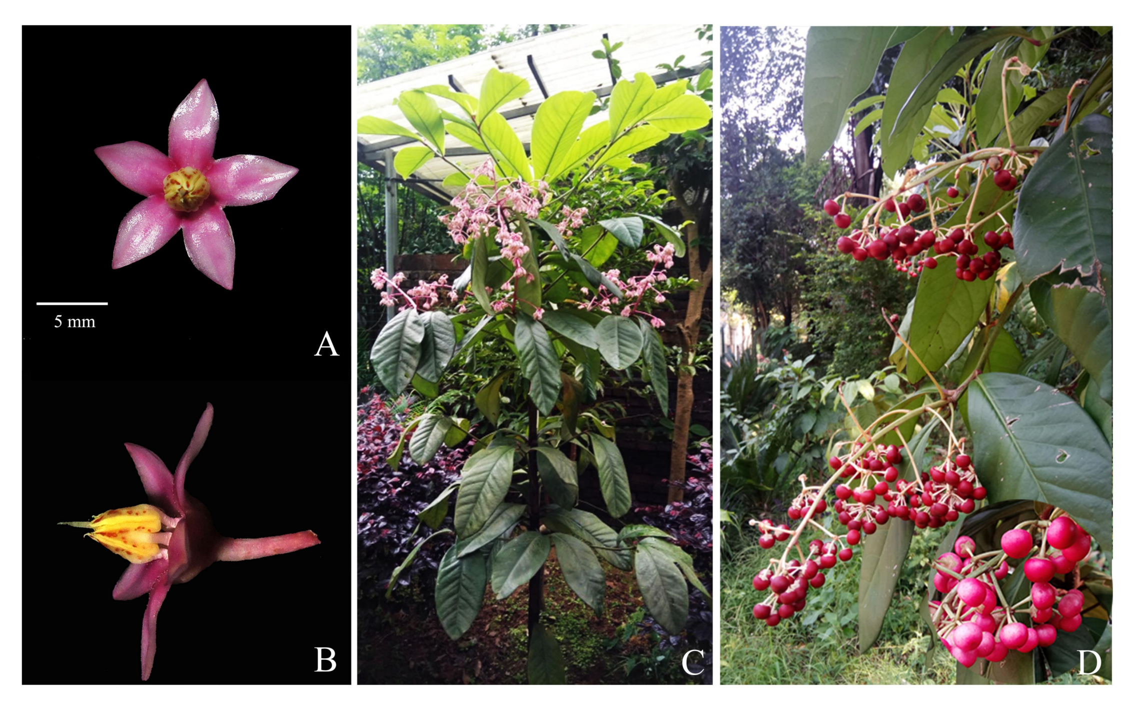
### 2.1 开花动态与花器官形态特征

矮紫金牛的花期在 5 月中下旬至 6 月中上旬。5 月 17 日首现花，5 月 20 日为群体始花期，5 月 29 日进入群体盛花期，6 月 7 日为群体花末期，6 月 10 日为终花日，单株花期平均 18 d，群体花期持续 25 d(表 1)。花序为总状伞形花序，单株发育花序 1~32 个，单株花序着生小花 16~420 朵。小花开放具有顺序性，位于总状伞形花序形态学下方的先开，逐步往上，位于形态学顶端的最后开放。花梗淡紫色(图 1：C)。花冠紫红色或粉色，直径约 15 mm，花瓣多为 5 片，极少数为 4、6 或 7 片(图 1：A)。花瓣倒卵状矩圆形，先端钝尖，长约 6 mm(图 1：A)。雄蕊黄色，5 枚，与花瓣近等长。柱头距离花药端部约 2 mm，花丝长为花药的 1/2(图 1：B)。子房球形，无毛，具腺点，胚珠 20-30 粒。

表 1 矮紫金牛开花物候期

Table 1 Flowering phenophase of *Ardisia humilis*

| 单株编号 Individual number | 单株首花日 Initial blossom (day/month) | 单株终花期 Final blossom (day/month) | 单株花期 Individual blossom duration（d） | 单株花朵数量 Individual quantity of bloom | 群体花期 Population blossom duration (d) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 17/5 | 3/6 | 18 | 132 | 25 |
| 2 | 21/5 | 6/6 | 17 | 203 | |
| 3 | 20/5 | 6/6 | 18 | 575 | |
| 4 | 21/5 | 6/6 | 17 | 429 | |
| 5 | 21/5 | 7/6 | 18 | 175 | |
| 6 | 22/5 | 10/6 | 20 | 663 | |
| 平均 Average | — | — | 18 | 362.83 | — |




**A**. 单花正面；**B**. 单花侧面；**C**. 花序；**D**. 果实。

**A**. Front of floral ; **B**. Profile of floral ; **C**. Inflorescences ; **D**. Fruits.

图 1 矮紫金牛花部形态特征与果实

Fig.1 Morphological characteristics of flowers and fruits of *Ardisia humilis*

在晴朗天气，矮紫金牛花朵在上午 9:00—10:00 开放，至当天下午 18：00 前后，花瓣和雄蕊凋落，有少数花朵的花瓣和雄蕊可延续至次日才脱落，单花的花期持续 9±1.3 h。开花进程可分为 6 个时期。

花蕾期(开花前 2 d)：花蕾膨大，花蕾粉色加深(图 2：a)。

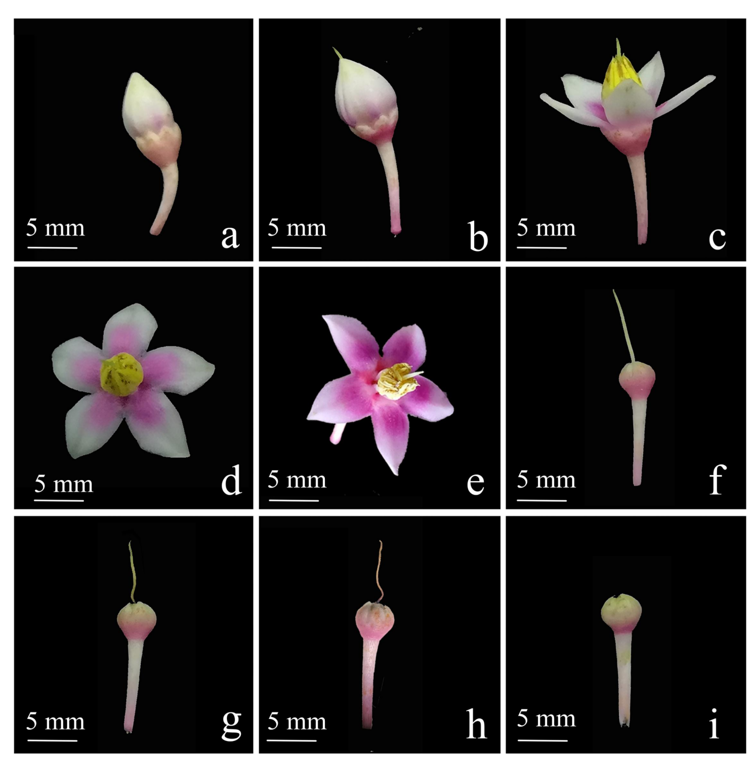
柱头伸出期(约 9:00)：花朵即将绽放时，花序上外轮小花的柱头先伸出花冠，外露于总苞片之外约 0.5 mm(图 2：b)，这种开花特性与 Pascarella (1997)对紫金牛科植物的描述一致；

初开期(约 9:30—10:30)：花苞逐渐变蓬松，花被片开裂，花朵初绽开，从花筒口可看到黄色花药，部分花药开始纵裂，微张的花瓣与花柱呈 45°夹角(图 2：c)；

盛开期(约 10:30—16:00)：花瓣呈水平展开，与花柱呈 90°夹角，紧紧抱住花柱的 5 个黄色花药完全暴露，花药开始散粉(图 2：d)；

衰落期(16:00—18:00)：花瓣开始向后反卷，花药颜色逐渐变浅并显得干枯(图 2：e)；

凋谢期(约 18:00 以后)：花瓣连同雄蕊一起凋落，宿存的柱头与花萼距离约 0.7 cm(图 2：f)。脱落后的花柱仍鲜活直立，然后花萼包住子房，约 3 d 后花柱干枯凋落(图 2：g-i)。




**a**. 花蕾期；**b**. 柱头伸出期；**c**. 初开期；**d**. 盛开期；**e**. 衰落期；**f**. 凋谢期；**g**. 花瓣及雄蕊凋谢后第 1d；**h**. 花瓣及雄蕊凋谢后第 2 天；**i**. 花瓣及雄蕊凋谢后第 3 天。

**a**. Bud period; **b**. Stigma protrude period ; **c**. Initiating bloom period; d. Bloom period; **e**. Declining period; **f**. Withering period; **g**. The 1st day after the fall of petals and stamens; **h**. The 2nd day after the fall of petals and stamens; **i**. The 3rd day after the fall of petals and stamens.

图 2　矮紫金牛单花不同花期的形态

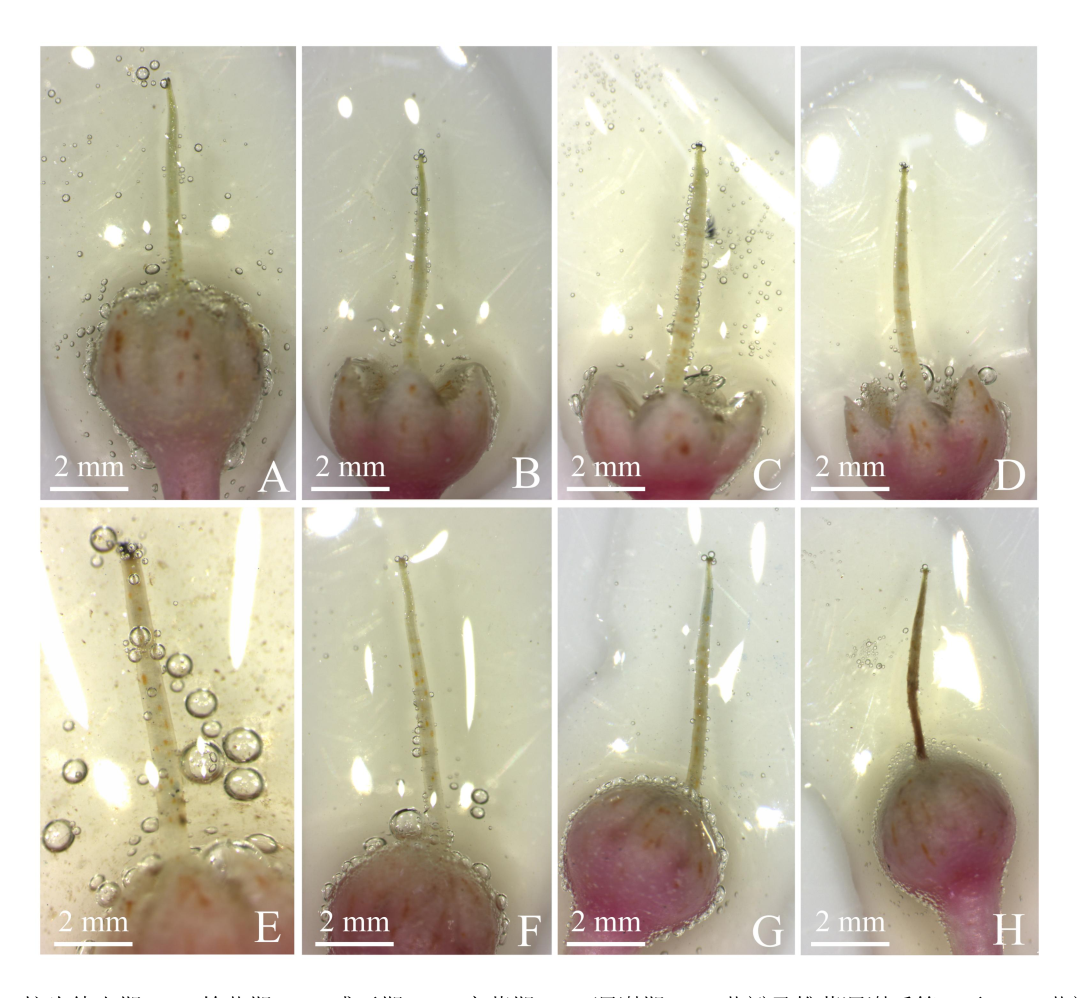
Fig.2　Floral blooming dynamics of *Ardisia humilis*

**2.2 花粉/胚珠比**

在观测样本中，矮紫金牛单花的花粉量最大值为 220 000，最小值为 68 000，平均 132 148 ± 44 780(标准差)；胚珠数最大值为 30，最小值为 20；其 P/O 最大值为 6 560，最小值为 4 267，平均 5 609 ± 699(标准差) (表 3)。

**2.3 花粉活力与柱头可授性**

柱头可授性结果表明，矮紫金牛花朵的柱头在各开放阶段均具有一定的可授性（表 2）。其中，在柱头伸出期和初开期，柱头可授性较弱，一旦进入盛开期，柱头可授性快速上升，到凋落期时达到顶峰，可授性最强(图 3：E)。在花瓣和雄蕊群凋落后的 2 d 内，宿存柱头的可授性快速减弱，但仍然保持着一定可授性。直至花瓣及雄蕊凋谢 3 d 后，柱头周围几乎观察不到气泡产生，柱头不再具有可授性(图 3：H)。




**A**. 柱头伸出期；**B**. 始花期；**C**. 盛开期；**D**. 衰落期；**E**. 凋谢期；**F**. 花瓣及雄蕊凋谢后第 1 天；**G**. 花瓣及雄蕊凋谢后第 2 天；**H**. 花瓣及雄蕊凋谢后第 3 天。

**A**. Stigma stretch out period; **B**. Onset of flowering; **C**. Peak of flowering; **D**: Declining period; **E**: Withered period; **F**. The 1st day after the petals and stamens fall; **G**. The 2nd day after the petals and stamens fall; **H**. The 3rd day after the petals and stamens fall.

图 3　矮紫金牛的柱头可授性变化特征

Fig.3　The stigma receptivity of *Ardisia humilis* in different flowering periods

矮紫金牛花粉萌发过程经历了约 5 h(图 4)，花粉活力最强出现在花朵盛开阶段，活力值达到约 27.42%，而在第一阶段(柱头伸出花苞期)和最后阶段(花瓣凋谢期)分别仅为 4.62%和 5.52%（表 2）。在柱头伸出花苞阶段，柱头已具有较弱可授性，花朵盛开期可授性较强，雄蕊连同花冠一起刚脱落时达到最强。从花朵脱落后第 1 天，柱头可授性急剧下降，一直到脱落后第 3 天仍具有微弱可授性(表 2)。由于矮紫金牛柱头在伸出花苞阶段就已具有可授性，而此阶段雄蕊尚未开始散粉，可以认为，矮紫金牛具有雌蕊先熟的特征，但随后雌雄蕊在成熟期上存在较长的重叠。

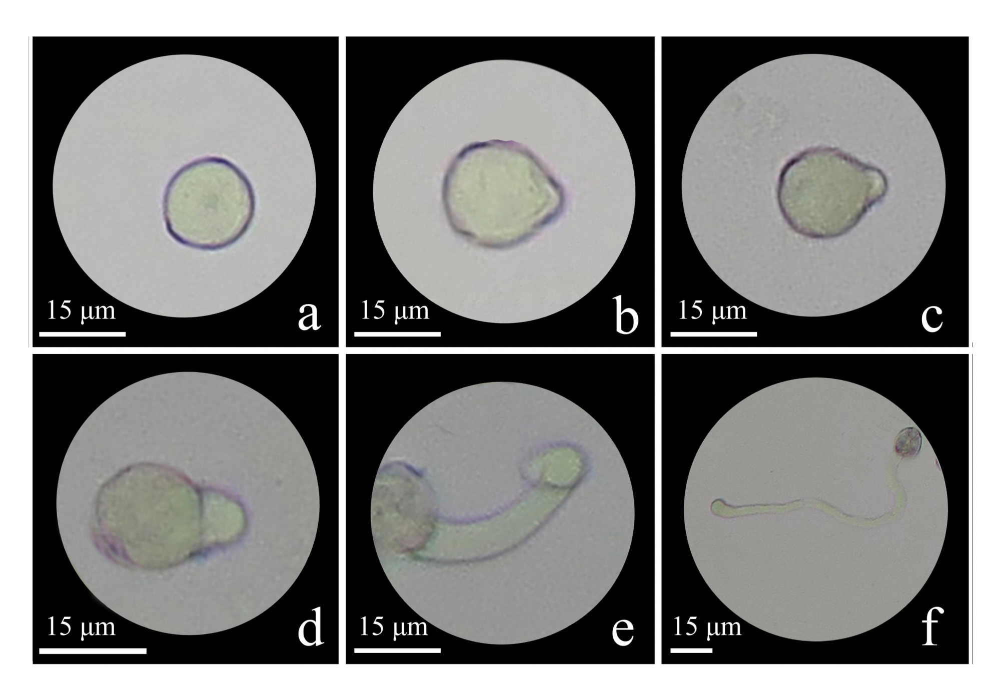



图 4　矮紫金牛花粉萌发动态

Fig. 4　Dynamics of pollen germination in *Ardisia humilis*

表 2　矮紫金牛花粉活力与柱头可授性

Table 2 Pollen viability and the stigma receptivity in *Ardisia humilis*

| 开花状态<br>Flowering status | 花粉活力<br>Pollen viability（%） | 柱头可授性<br>Stigma receptivity |
|---|---|---|
| 柱头伸出 Stigma stretch out | 4.62±1.98 | + |
| 初开 Initiating bloom | 5.11±2.32 | + |
| 盛开 Bloom | 27.42±12.16 | ++ |
| 衰落 Declining | 5.52±1.94 | ++ |
| 花瓣及雄蕊凋谢 Petals and stamens withered | / | +++ |
| D1 | / | + |
| D2 | / | + |
| D3 | / | - |

注：-表示柱头不具可授性；+表示柱头具可授性；++表示柱头可授性较强；+++表示柱头可授性最强。/表示未检测，“D1”表示花瓣及雄蕊凋谢后的第 1 天，“D2”表示花瓣及雄蕊凋谢后的第 2 天，“D3”表示花瓣及雄蕊凋谢后的第 3 天。

Note： －indicates no stigma receptivity; + indicates stigmas have receptivity; ++ indicates stigmas have higher receptivity; +++ indicates stigmas have the highest receptivity．label / indicated not detecting, “D 1” represents the the 1st day after the petals and stamens fall.“D 2” represents the 2nd d after the petals and stamens fall.“D 3” represents the 3rd d after the petals and stamens fall.

**2.4 杂交指数估算**

矮紫金牛单花直径为(15.45 ± 1.00) mm，大于 6 mm，参照 Dafni(1992)的标准记为 3；通过花粉活力和柱头可授性检测结果可知，雌雄蕊的成熟时间同步，记为 1；开花时，柱头与花药的空间距离（2.06 ± 0.24）mm，位置明显分离，记为 1，总计其杂交指数(OCI)为 4(表 3)。据此初步推测，矮紫金牛的繁育系统为部分自交亲和，异交，需要传粉者。

表 3　矮紫金牛杂交指数与花粉-胚珠比观测结果

Table 3　Out-crossing index and pollen-ovule ratio of *Ardisia humilis*

| 观测项目 Observation item | 表现 Expression | 繁育系统类型 Types of breeding systems |
|---|---|---|
| 花序直径 Diameters | 3 | |
| 雌雄同熟 Monochogamy | 0 | 异交，部分自交亲和，需要传粉者 |
| 雌雄空间分离 Spatial separation | 1 | Out-crossing partially self-compatible， |
| 杂交指数 Out-crossing index | 4 | demanding for pollinators |
| 每朵花的花粉数 Pollen number perflower | 132 148±44 780 | |
| 每朵花的胚珠数 Ovule number perflower | 23.6±3.34 | 专性异交 Xenogamy |
| 花粉-胚珠比 Pollen-ovuleratio | 5 609±699 | |

**2.5 控制性授粉结实率**

套袋与人工授粉试验结果显示，矮紫金牛花序在 4 种处理下均能结实，自然授粉(不授粉，不套袋，自由传粉)的结实率最高，平均达到 52.96%，显著高于人工同株授粉(平均结实率 28.67%)，但与自花授粉(平均结实率 52.29%)和人工异株授粉(平均结实率 50.33%)的差异不显著(表 4)。有趣的是，套袋与人工授粉试验发现，矮紫金牛具有很强的自动自花授粉(autogamy)能力，在花序被与外界隔离开的情况下，自发授粉的结实率仍达到极高的 52.29%。

表 4　矮紫金牛套袋及人工授粉试验结果($n = 3$)

Table 4 Results of bagged and artificial pollination on inflorescents of *Ardisia humilis*

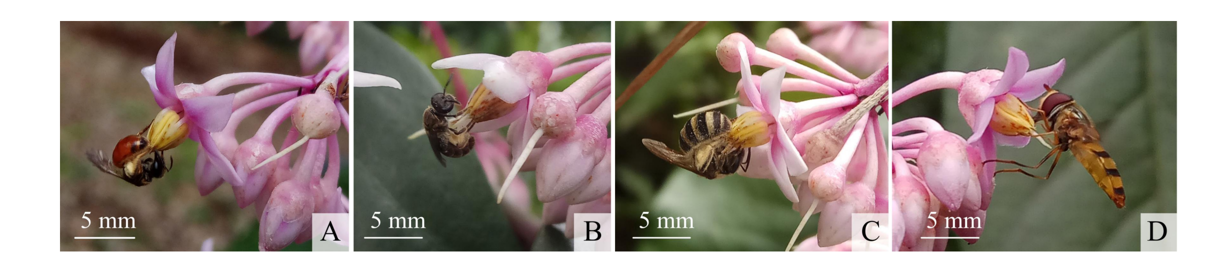
| 处理 Treatment | 处理花朵数量 Number of flowers（flower） | 结果数量 Number of fruits | 结实率 Fruit setting rate (%) |
|---|---|---|---|
| 套袋，不授粉 Bagged,no artificial pollination | 307 | 162 | 52.29 ± 9.21 b |
| 不授粉，不套袋，自由传粉 Unbagged, untreated,free pollination | 161 | 83 | 52.96 ± 15.22 b |
| 去雄，套袋，人工同株授粉 Bagged, emasculated, artificial geitonogamy | 68 | 19 | 28.67 ± 17.48 a |
| 去雄，套袋，人工异株授粉 Bagged，emasculated，artificial cross-pollination | 79 | 39 | 50.33 ± 21.34 b |

注：差异显著($P < 0.05$)使用不同字母表示。

Note : Significant differences ( $P < 0.05$) using different letters.

**2.6 访花者的种类、行为和访花频率**

观测结果显示访花昆虫的访花活动主要出现在 8:00–17:00。观察记录到访花昆虫 4 种，其中隧蜂科(Halictidae)3 种、食蚜蝇科(Syrphidae)1 种(图 5)。访花频率最高的是隧蜂科淡脉隧蜂属的 *Lasioglossum* sp. 1，远高于其他 3 种访花昆虫，该蜂腹部橙红色、体型较小(图 5：A)；访花频率居第 2 位的是隧蜂科隧蜂属昆虫 *Halictus* sp.，该蜂体型长约 8 mm，黑褐色(图 5：B)；访花频率居第 3 位的是隧蜂科淡脉隧蜂属昆虫 *Lasioglossum* sp. 2，该蜂腰腹部有黄色和黑色交替条纹(图 5：C)；访花频率最低的是食蚜蝇科蚜口食蚜蝇属的 *Asarkina* sp.，偶见访花(图 5：D)。




**A**. 淡脉隧蜂属昆虫 *Lasioglossum* sp. 1; **B**. 隧蜂属昆虫 *Halictus* sp.; **C**. 淡脉隧蜂属昆虫 *Lasioglossum* sp. 2; **D**. 狭口食蚜蝇属昆虫 *Asarkina* sp.

**A**. *Lasioglossum* sp.1; **B**. *Halictus* sp; **C**. *Lasioglossum* sp.2; **D**. *Asarkina* sp.

图 5　矮紫金牛的访花昆虫

Fig.5　Floral visitors of *Ardisia humilis*

在晴天，*Lasioglossum* sp.1 在 7:00 开始访花，初现时频率较低，8:00 后随着气温升高及大量花朵相继开放，*Lasioglossum* sp.1 访花频率逐渐上升，访花高峰期出现在 10:00—13:00 间，此后访花频率逐渐下降(图 6)。访花时，*Lasioglossum* sp.1 直接落到雄蕊群上，环绕雄蕊群打转寻找成熟花药，并以后足抱握花药，前足收集花粉置于花粉筐中形成花粉块。*Lasioglossum* sp.1 访花过程中身体特别是腹部经常触碰到与雄蕊异位的柱头，访完 1 朵花后会迅速爬过其它花苞（有的柱头已伸出）或飞行至另 1 朵花上。在同 1 株上连续访花 3~6 朵，平均每花每小时被访次数为 0.19~2.24 次，单花停留时间为 15~30 s。

*Halictus* sp.的访花行为与 *Lasioglossum* sp.1 类似，但访花频率较后者低。主要访花时间段为 9:00-13:00，从 8:00 开始，随着温度升高，活动量也逐渐增大，访花高峰期出现在 9:00-10:00 和 12:00-14:00，下午访问频率相对较低(图 6)。*Halictus* sp.访花时，在同 1 株上连续访问 1~3 朵花，平均每花每小时被访次数为 0.02~0.7 次，每朵花的平均停留时间为 3~23 s。

*Lasioglossum* sp.2 访花时间主要在 12:00—14:00，访花高峰期出现在 13:00-14:00(图 6)。访花时，该蜂先围绕花朵呈十字交叉旋转，然后落停在花朵上，用前足抓住雄蕊，整个腹部环抱雄蕊和柱头，随后通过震动把花粉从成熟花药中抖出，Larson 和 Barrett(1999)把传粉昆虫的这种行为叫“声震传粉”(buzz pollination)。此时 *Lasioglossum* sp.2 前足、头部及前胸部粘上大量花粉，其一边以前足抓住花蕊，一边以中足和后足不停的交叉刮刷，将粘附在周身的花粉收集到花粉篮内。在此过程中常使带有花粉的中足、后足或腹部接触到雌蕊柱头而实现传粉。*Lasioglossum* sp. 2 在同 1 植株上连续访问 3~7 朵花，每花每小时被访次数为 0.01~0.03 次，单花停留时间较长，平均为 3~20 s。

*Asarkina* sp.的访花偶见于晴朗的上午，出现频率极低(图 6)。它通常 1 次访花 1~2 朵，平均单花每小时访问次数为 0.01~0.07 次，单花停留时间为 1~5 s。*Asarkina* sp.行动灵活，常翱翔空中，或振动双翅在空中悬停，或突然作直线高速飞行。访花时直接落到花瓣或雄蕊群，用中足与后足支撑身体，同时用 2 前足来回搓碰花粉，有时把头部伸入雄蕊群中以喙舐食花粉，使其体毛黏附上花粉。

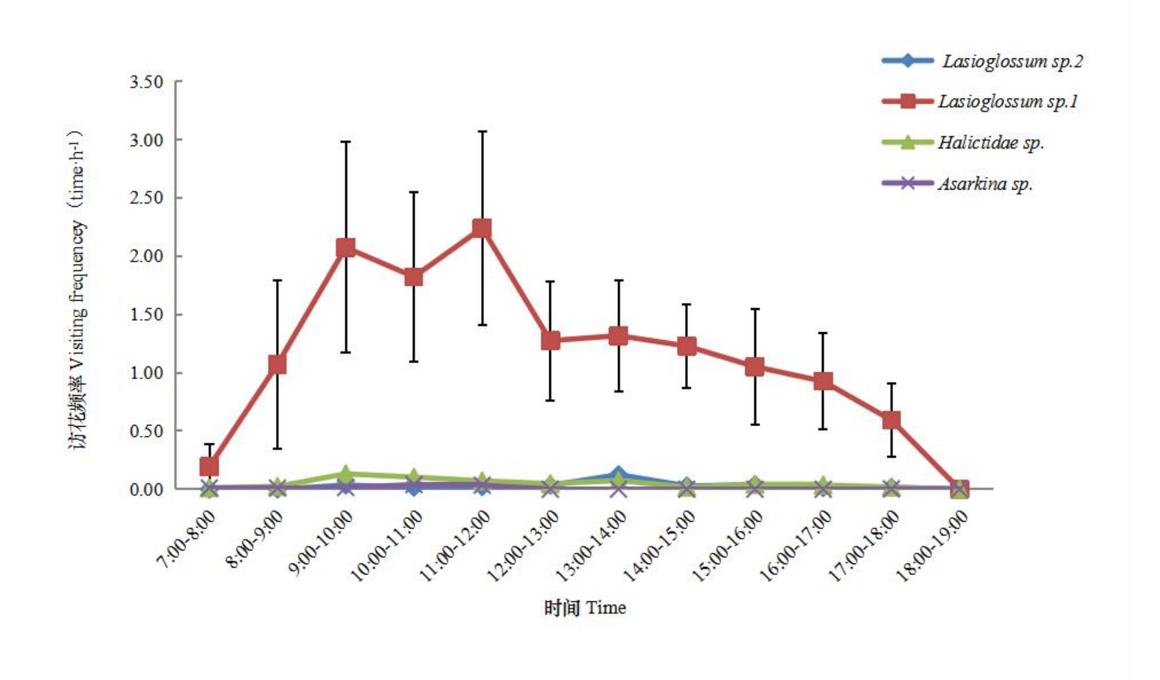



图 6 矮紫金牛 4 种访花昆虫的访花频率

Fig. 6 Visiting frequencies of four visitors on floral of *Ardisia humilis*

## 3 讨论

### 3.1 花部综合特征对传粉的影响

植物花部综合特征包括花部构成与开放式样，二者共同作用综合影响植物对传粉昆虫的吸引与花粉的传播，以及植物的交配机遇与繁殖适合度（罗长维等，2019）。从矮紫金牛的花部特征来看，其花白天开放，伞形花序，雌雄蕊暴露，花瓣与花药颜色艳丽，开花数量极多，且花粉量极大等花部构成吸引了各种短喙昆虫前来访花（Luo et al., 2011）。其中，矮紫金牛的雌雄蕊露出花冠外的花部特征也增大传粉昆虫与柱头的接触机率，同时提高授粉机遇，是植物为适应虫媒传粉的一种表现。植物靠花和花序的外部特征等吸引昆虫，同时提供花粉或花蜜作为“奖励”，而这些“奖励”的多少不但会影响昆虫的传粉效率，而且还可能影响花粉的萌发（赵晓依等，2019）。本研究中，矮紫金牛提供给访花昆虫的唯一报酬物为花粉，但其花粉胚珠比高达 5 609，一些研究表明植物的花粉-胚珠比(P/O)与报酬类型有关，以花粉为报酬物则 P/O 的值也高，这可能与植物需产生额外的花粉来补充传粉昆虫消耗的花粉有关（黄利春等，2014）。

此外，不少对植物开花物候的研究显示花期呈现“集中开花模式”，是虫媒传粉植物提高生态适应性、保障生殖成功的表现(Harder & Barrett, 1995; 万海霞等，2018; 温馨等，2021)。矮紫金牛群体花期时间持续 25~30 d，开花同步性较强，也呈现“集中开花模式”，这种“集中性”开花有利于吸引更多昆虫前来访花传粉以提高结实率。除了群体花期，矮紫金牛的单花开放进程也影响着昆虫传粉。例如，本研究发现矮紫金牛访花昆虫的访花频率呈现上午访花频率高、早上与下午访花频率低的趋势，早上一般是 9：00 之前访花昆虫少，访花频率低，这可能因为早上植株上有露珠，昆虫一般会等露珠干了以后才访花，温馨等（2021）学者的相关研究中也得到类似结论。而下午的访花频率明显低于上午，这可能与矮紫金牛花朵单花开放进程相关，10：00—12：00 正是花朵开放旺盛以及花药散粉的时间段，因此更容易吸

引昆虫，下午大部分花药已散粉结束甚至花冠即将凋落。另外还发现矮紫金牛的柱头和花粉失去活力时，花冠仍可宿存于子房基部且保持新鲜，直至傍晚无昆虫访花时花冠才整个凋落，可能是为了增加整个植株的花展示面积，从而继续发挥其吸引传粉昆虫的作用，属于植物适应传粉的一种保障（Zhang et al., 2011）。

矮紫金牛的“集中开花模式”、开花进程、花色艳丽、花量极多以及较高花粉胚珠比等花部综合征可能是其传粉环境不稳定、访花报酬物单一情况下通过完善传粉系统以提高结实率的主要原因。

3.2 繁殖保障策略

本研究结果显示矮紫金牛的繁育系统以专性异交，部分自交亲和，需要传粉者。但从控制性授粉结果来看，矮紫金牛具有较强的自交亲和力，就算是在隔绝昆虫传粉的情况下，仍可自发自交授粉。Pascarella 对热带美洲 5 种紫金牛属植物繁育系统的研究发现这些植物均自交亲和，其中 4 种可自花授粉的结论也与本研究结果相一致(Pascarella, 1997)。结合此次在矮紫金牛上的发现，推测自发传粉行为在紫金牛属植物中可能普遍存在，是该属植物适应有效传粉昆虫缺失的一种机制。Darwin(1876)认为，繁殖保障是自交进化最重要的因子。相比异交而言，在种群密度低或缺少传粉者时，自交可以提高植物的结实率并赋予自动选择优势(Holsinger，1996)，因此，植物的混合交配系统在自然界十分常见(Lloyd, 1979；何亚平和刘建全，2003)。从本研究来看，矮紫金牛的花部结构具有多个自交与异交特征。例如，花冠倒挂、柱头在水平位置上低于雄蕊群以及花粉量多等结构特性，使得无论是在重力、风力的作用下，或者由于昆虫触碰的影响，都增大了花粉散落到柱头上的几率，同时有利于可授期柱头接受有活力的花粉，是自花授粉(自交)得以完成的重要基础(万海霞等，2018)。此外，矮紫金牛花表现出雌蕊先熟的特征，但柱头可授期与花粉活力高峰期存在较长重叠，是一种不完全的雌蕊先熟。相关研究表明，雌蕊先熟的特征有利于促进异花授粉，尤其是在传粉昆虫资源丰富的生境中，雌蕊先熟的个体进行异花授粉的几率很大(Cetinbas & Ünal, 2014; Cardoso et al., 2018)，在传粉昆虫稀缺的生境，雌蕊先熟个体还可通过自体授粉维持一定的繁殖成效(Sato, 2002)，相对不完全的雄蕊先熟，不完全的雌蕊先熟能更有效地避免自交行为(慕军鹏等，2018)。同时，矮紫金牛雌蕊先熟的特征暗示，其交配系统很可能以异交为主。

传粉昆虫在开花植物传粉过程中起着关键作用(万海霞等，2018)。本研究结果显示矮紫金牛的主要访花昆虫为隧蜂科昆虫，这与 Bawa(1990)对紫金牛科植物的调查得出其传粉者主要为体型较小的隧蜂科昆虫的结果相一致。此外，相关研究认为这类昆虫具有泛化传粉者的特征，地理分布范围广(Yu，2013)，结合本研究的结果，推断矮紫金牛引种栽培到原产地以外的地区后，仍可从自然界获得充足的昆虫授粉服务，不会因传粉者的匮乏而导致结实率降得太低。

总体而言，一方面，矮紫金牛花形美丽，开花量极大，观花价值突出；另一方面，在泛化传粉昆虫提供授粉服务和自动自交机制的双重保障下，矮紫金牛在原产地以外的地理区域，仍可正常完成有性生殖过程，且开花结实率依然很高，维持着良好的观果价值；并且由于其具有很强的自动自交能力，矮紫金牛还适用于室内装饰，因为即使室内缺少传粉昆虫，其也能维持很高的结实率。此外，鉴于矮紫金牛具有较强的自动自交能力，在未来进行矮紫金牛杂交育种时，需考虑避免自交发生的措施，如提前去雄等，以减少自交产生的不利影响。

**参考文献：**

BARRIONUEVO CN, BENITEZ-VIEYRA S, SAZATOMIL F, 2021, Floral biology of *Salvia stachydifolia*, a species visited by bees and birds: connecting sexual phases, nectar dynamics and breeding system to visitors' behavior [J]. J Plant Ecol, 14(4): 580-590.

BAWA KS, 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rainforests[J]. Annu Rev Ecol Syst, 21（1）: 399-422.

CETINBAS A, ÜNAL M. 2014. An overview of dichogamy in angiosperms[J]. Res Plant Bio, 4(5): 9-27.

CHAI SF, CHEN ZY, TANG JM, et al., 2019, Breeding system and bird pollination of *Camellia pubipetala*, a narrowly endemic plant from karst regions of south China[J]. Plant Species Biol, 34(4): 141-151.

CHEN J, 1979. Flora of China (58) –*Ardisia humilis* Vahl. Beijing: Science Press. [陈介，1979. 中国植物志(58)——矮紫金牛. 北京：科学出版社. ]

CHEN XY, LI N, SHEN L, 2001. The mating system of *Ardisia crenata* var. *bicolor* (myrsinaceae), a subtropical understory shrub in Tiantong National Forest park, Zhejiang Province[J]. Chin J Plant Ecol, 25(2): 161-165. [陈小勇，厉宁，沈浪. 2001. 浙江天童国家森林公园红凉伞交配系统研究[J]. 植物生态学报，25(2): 161-165.]

Cortés-Flores J, Hernández-Esquivel KB, González R , et al., 2017. Flowering phenology, growth forms, and pollination syndromes in tropical dry forest species: influence of phylogeny and abiotic factors. Amer J Bot, 104(1): 39-49.

CRUDEN RW, 1976. Intraspecific variation in pollen-ovule ratios and nectar secretion-preliminary evidence of ecotypic variation[J]. Ann Mo Bot Gard, 63(2): 277-289.

DAFNI A, 1992. Pollination ecology: a practical approach[J]. New York: Oxford University Press, 46(2): 1-5.

DANIELI-SILVA A, VARASSIN IG, 2013, Breeding system and thrips (Thysanoptera) pollination in the endangered tree *Ocotea porosa* (Lauraceae): implications for conservation [J]. Plant Species Biol, 28(1): 31-40.

DARWIN C, 1876. The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom[M]. London: John Murray.

FAN J, ZHANG W, ZHANG D, et al., 2019, Flowering stage and daytime affect scent emission of malus ioensis "Prairie Rose"[J]. Molecules, 24(13):2356.

CARDOSO JCF, VIANA ML, MATIAS R, et al., 2018. Towards a unified terminology for angiosperm reproductive systems[J]. Acta Bot Brasilica, 32(3): 329-348.

Flora of China Editorial Committee, 2006. Flora of China: (Volume 22)[M]. Beijing: Science Press and Missouri Botanical Garden Press: 7.

GONG YB, HUANG SQ, 2007. On methodology of foraging behavior of pollinating insects[J]. Biodivers Sci, 15(6): 576-583. [龚燕兵，黄双全，2007. 传粉昆虫行为的研究方法探讨[J]. 生物多样性，15(6)：576-583.]

HARDER LD, BARRETT SCH, 1995. Mating cost of large floral display in hermaphrodite plant[J]. Nature, 372(6514): 512－515.

HE YP, LIU JQ, 2003. A review on recent advances in the studies of plant breeding system[J]. Acta Phytoecol Sini. 27(2) 151-163. [何亚平，刘建全. 2003. 植物繁育系统研究的最新进展和评述[J]. 27( 2)：151-163]

HEGLAND SJ, GRYTNES JA, TOTLAND O, 2009. The relative importance of positive and negative interactions for pollinator attraction in a plant community[J]. Ecol Res. 24(4): 929-936.

HOLSINGER KE, 1996. Pollination biology and the evolution of mating systems in flowering plants[J]. Evol Biol, 29(5): 107-149.

HUANG LC, JIN L, LI J, et al. 2014. Floral morphology and its relationship with pollination systems in Papilionoideae [J]. Acta Ecol Sin, 34(19): 5360-5368.[黄利春，金樑，李晶，等，

2014. 蝶形花亚科植物花部适应机制与传粉系统[J]. 生态学报，34(19)：5360-5368.]
JEFFREY TH, KENNETH AL, MICHAEL M, 2011. Field trials for herbicide control of coral Ardisia (*Ardisia crenata*) in natural areas of northcentral Florida[J]. Invasive Plant Science and Management. 4(2): 234-238.
LARSON BMH, BARRETT SCH, 1999. The pollination ecology of buzz-pollinated *Rhexia virginica* (Melastomataceae)[J]. Amer J Bot, 86(4): 502-511.
LES DH, 1988. Breeding systems, population structure, and evolution in hydrophilous angiosperms[J]. Ann Mo Bot Gard, 75(3): 819-835.
LI TQ, LIU XF, LI ZH, et al., 2018. Study on reproductive biology of *Rhododendron longgipedicellatum*: A newly discovered and special threatened plant surviving in limestone habitat in southeast Yunnan, China [J]. Front Plant Sci, 9(1): 33
LI XJ, SHENG YJ, ZHANG T, et al., 2021, The pollen germination and pollination biology of *Polygonatum cyrtonema* [J]. Acta Sci. Nat. Univ. Sunyatseni( Nat Sci Ed) , 60(6):110-120. [李绪杰，盛雅娟，张彤，等，2021. 多花黄精花粉萌发与传粉生物学特征[J]. 中山大学学报(自然科学版)，60(6)：110-120.]
LLOYD DG, 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants[J]. Amer Naturalist, 113(1): 67-79.
LUO CW, CHEN Y, ZHANG T, 2019. Breeding system and pollination biology of *Paeonia ostii* [J].J NI For Univ( Nat Sci Ed), 43(3): 37-44.[罗长维，陈友，张涛. 2019. 凤丹繁育系统与传粉生物学研究[J].南京林业大学学报(自然科学版），43(3): 37-44.]
LUO CW, HUANG ZY, CHEN X, et al., 2011. Contribution of diurnal and nocturnal insects to the pollination of *Jatropha curcas* ( Euphorbiaceae) in southwestern China[J]. J Econ Entomol，104(1): 149－154.
MAO SZ, DENG T, TANG WX, et al., 2012. Comprehensive evaluation of the wild ornamental plants of *Ardisia* in Guangxi[J]. Guihaia. 32 (4): 501-506. [毛世忠，邓涛，唐文秀，等，2012. 广西紫金牛属野生观赏植物的综合评价[J]. 广西植物，32(4): 501-506. ]
MU JP, WANG Q, GAI WF et al., 2018. Comparison of fitness between proterogyny and protandry flowers in *Gentianas quarrosa* (Gentianaceae)[J]. J Mianyang Teachers College, 37(2): 1-15. [慕军鹏，王勤，代文霏，等，2018. 鳞叶龙胆雌蕊先熟和雄蕊先熟适合度比较[J]. 绵阳师范学院学报，37(2):1-15.]
PASCAERLLA JB, 1997. Breeding systems of *Ardisia* Sw. (Myrsinaceae)[J]. Brittonia, 49(1): 45-53.
SATO H, 2002. The role of autonomous self_pollination in florallongevity in varieties of *Impatienshypophylla* (Balsaminaceae)[J]. Amer J Bot, 89(2): 263- 269.
SCHOEN DJ, JOHNSON MTJ, WRIGHT SI, 2019, The ecology, evolution, and genetics of plant reproductive systems[J]. New Phytol, 224(3): 999-1004.
TRAVERS SE, ANDERSON K, VITT P et al., 2018. Breeding system and inbreeding depression in the rare orchid, *Platanthera praeclara*, in a fragmented grassland landscape[J]. Botay, 96( 3): 151-159.
WAN HX, DENG HP, HE P, et al., 2018. Breeding system and pollination biology of endangered *Plantago fengdouensis*[J]. Acta Ecol Sin，38 (11): 4018-4026. [万海霞，邓洪平，何平，等，2018. 濒危植物丰都车前的繁育系统与传粉生物学研究[J]. 生态学报，38(11): 4018-4026.]
WANG J, 2012. Breeding system of *Magnolia officinalis* subsp. biloba and its ending cause analysis of reproductive biology[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Sciences:1-96. [王

洁. 2012. 凹叶厚朴繁育系统研究及其濒危的生殖生物学原因分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院: 1-96. ]

WANG QL, YE CH, YAN XX, et al., 2015. Preliminary Study on Cutting Techniques of *Ardisia humilis*[J]. J Trop Agric Sci, 35(7): 30-35. [王清隆，叶才华，晏小霞，等. 2015. 矮紫金牛播种技术初探[J]. 热带农业科学，35(7)：30-35.]

WANG X, DENG HP, DING B, et al, 2012. Comparison of floral morphology and pollination characteristics between the sexes in *Eurya obtusifolia*[J]. Acta Ecol Sin, 32 (12): 3921-3930. [王茜，邓洪平，丁博，等，2012. 钝叶柃不同性别花的花部形态与传粉特征比较[J]. 生态学报，32(12)：3921-3930.]

WEI HL, GAO C, QIU J, et al., 2021. Flowering biological characteristics of Camellia weiningensis Y. K. Li [J]. Hortic Sci, 56(11): 1331-1339.

WEN X，ZHANG YS，SHANG YH，et al., 2021. Flowering phenology and pollinating insect of *Clematis patens* [J]. Guihaia, 41(8) : 1315-1323.[温馨，张永胜，尚禹含等，2021. 大花铁线莲开花物候与传粉昆虫的研究［J］. 广西植物，41(8)：1315－1323.]

YU VA, 2013. Geographic distribution of halictid bees of the subfamilies Rophitinae and Nomiinae (Hymenoptera, Halictidae) in the Palaearctic [J] Entomol Rev, 93(4): 437-451.

ZHANG XY, WANG ZK, LI GF, et al., 2019. A study on breeding characteristics and ecological adaptability of the *Ferula ferulaeoides* [J]. Bull Bot Res, 39(3):321-328. [赵晓依，王仲科，李桂芳，等，2019. 多伞阿魏的繁育系统及其生态适应性[J].植物研究，39(3)：321-328.]

ZHANG ZQ, ZHANG YH, SUN H, 2011. The reproductive biology of *Stellera chamaejasme*(Thymelaeaceae); a sel-incompatible weed withspecialized flowers[J]. Flora, 206(6): 567-574.